

[Faint, illegible text]

Zeitschrift

D

Fünfte

Verlag v

Wohl Rind reports from Dabulin B.

Nicht im Buchhandel.

3

A b d r u c k
aus der
Zeitschrift für allgemeine Physiologie.

Herausgegeben von
Dr. Max Verworn,
Professor der Physiologie und Direktor des physiologischen Instituts
an der Universität Göttingen.

Fünfter Band. Erstes Heft. 1905.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.



Nachdruck verboten.

Der Einfluss der Konzentration auf die Chemotaxis.

Von J. O. WAKELIN BARRATT,

British Medical Association Research Student.

(Aus dem physiologischen Institut zu Göttingen).

Mit 1 Abbildung.

(Der Redaktion zugegangen am 24. Dezember 1904.)

In den meisten Versuchen über Chemotaxis ist die prozentige Stärke der Lösungen angegeben, so daß eine Vergleichung der Konzentration der Substanzen, deren chemotaktischer Einfluß auf Organismen von verschiedenen Beobachtern untersucht ist, nicht ohne weitere Berechnungen gemacht werden kann. Ferner findet man weder Angaben über die tödlich wirkende Konzentration der zum Versuch dienenden Substanz, noch über die Zusammensetzung der Flüssigkeiten, in welchen die verwendeten Organismen gezüchtet wurden. In vorliegender Arbeit wird versucht, die Chemotaxis von *Paramecium aurelia* in Bezug auf Säuren und Alkalien auf eine quantitative Basis zu stellen. In den Versuchen wird die molekulare Stärke der verwendeten Säure- und Alkalilösungen angegeben, und auch die osmotische und elektrolytische Konzentration der Heuinfusion, in welcher die Paramäcien lebten. Der Grad der chemotaktischen Reaktion wird dadurch bestimmt, daß man die zu prüfenden Flüssigkeiten in Röhren bringt, und die in dieselben hineingehenden Paramäcien mit der Zahl der Paramäcien, welche in Heuinfusion enthaltene Kontrollröhren hineingehen, vergleicht. Endlich wird in dieser Arbeit versucht, die Chemotaxis von in Heuinfusion vorhandenen Paramäcien mit derjenigen von in destilliertem Wasser enthaltenen Paramäcien zu vergleichen.

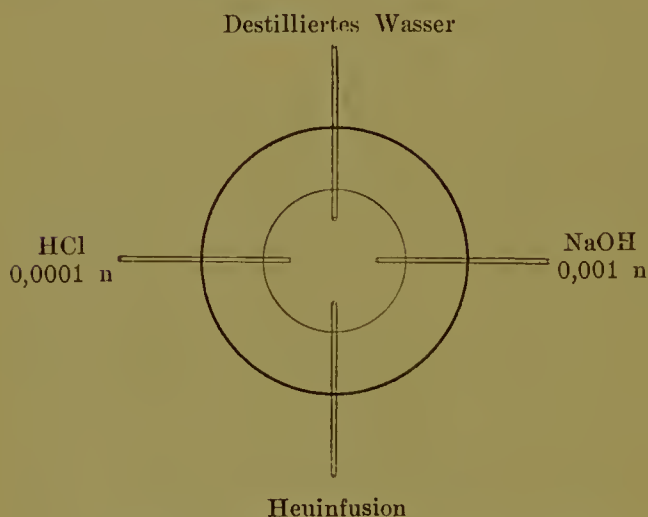
Diese Untersuchung bildet die Fortsetzung einer früheren Arbeit¹⁾,

1) Die Wirkung von Säuren und Basen auf lebende Paramäcien. Zeitschr. f. allg. Physiol., Bd. 4, 1904, p. 438.

in welcher die auf Paramäcien tödlich wirkende Konzentration einer Reihe von Säuren und Basen bestimmt und die Natur solcher Wirkung studiert wurde, welche Arbeit den Weg gebahnt hat nicht nur für eine genauere Bestimmung der Bedingungen, unter welchen Chemotaxis stattfindet, sondern auch für die weitere Verwendung von physikalischen und physikalisch-chemischen Methoden zur Untersuchung der Chemotaxis.

Methode.

Die zum Messen des Grades der Chemotaxis verwendete Methode ist in ihren wesentlichen Zügen ganz einfach. Der benutzte Apparat ist in beistehender Figur gezeigt. In eine Uherschale, deren Durchmesser 5 cm betrug, wurde 1 ccm Paramäcien enthaltende Heu-



Der äußere Kreis ist der Umriß der Schale, der innere bedeutet den Rand der Paramäcien enthaltenden Flüssigkeit. In die letztere tauchen 4 enge Röhren, welche enthalten: 1) Säurelösung; 2) destilliertes Wasser; 3) Alkalilösung und 4) Heuinfusion.

infusion resp. destilliertes Wasser gebracht, in welche enge Röhren, die die zu prüfenden sauren oder alkalischen Lösungen enthielten, hineintauchten, deren obere Enden frei waren. Ferner wurden auch Kontrollröhren, welche destilliertes Wasser resp. Heuinfusion enthielten, verwendet, wie in der Figur gezeigt ist. Nach Verlauf von 15 bis 20 Minuten wurden die Röhren von der Schale weggenommen und unter dem Mikroskop auf einen

Objektträger gebracht. Dann wurde die Zahl der toten und lebenden Paramäcien bestimmt, ebenso die Länge der Röhre, in welcher sie vorhanden waren. Der innere Durchmesser der Röhren variierte in verschiedenen Versuchen von 0,8–2,3 mm, jedoch hatten die in jedem einzelnen Versuche verwendeten Röhren denselben Durchmesser.

Die benutzten engen Röhren waren aus Jenenser Verbrennungsglas gemacht, da dieses Glas im Wasser am wenigsten löslich zu sein scheint. Die inneren Durchmesser dieser Röhren wurden unter dem Mikroskop mittels eines Okularmikrometers gemessen.

Die verwendeten sauren und alkalischen Lösungen wurden zu-

nächst als 0,1 normal hergestellt, und unmittelbar vor dem Gebrauch wie erforderlich verdünnt. Um verdünnte alkalische Flüssigkeiten vorzubereiten, wurde destilliertes Wasser, welches von Kohlensäure dadurch befreit war, daß man einen Strom CO_2 -freier Luft 6 Stunden lang hindurchgehen ließ, verwendet. Bei diesen wie bei früheren Versuchen wurde die Genauigkeit, mit welcher die sauren und alkalischen Lösungen hergestellt waren, dadurch geprüft, daß man ihre relative Leitfähigkeit¹⁾ maß. Die verwendeten Konzentrationen der Säuren variierten von 0,0001 n bis 0,00001 n, und diejenigen der Alkalien von 0,001 n bis 0,00001 n. Bei Anwendung der letzteren Konzentration ist es schwer, bei den Versuchen einen konstanten Unterschied zwischen der zu prüfenden Lösung und destilliertem Wasser zu bekommen. Die verwendeten Säuren waren die starken Mineralsäuren: Salzsäure, Salpetersäure und Schwefelsäure; die schwachen Säuren: Ameisensäure, Oxalsäure und Essigsäure und die extrem schwachen Elektrolyte: Borsäure und Blausäure. Die in den Tabellen 1 und 3 angegebenen Konzentrationen dieser Säuren sind molekular, mit Ausnahme derjenigen von Schwefelsäure, welche äquivalent ist. Die verwendeten Basen waren: die starken Alkalien, die Hydroxyde von Kalium, Natrium, Lithium, Calcium, Strontium und Barium; das schwache Alkali Ammoniak und der extrem schwache Elektrolyt Anilin. Die in den Tabellen 2 und 4 angegebenen Konzentrationen dieser Basen bedeuten Grammäquivalente pro Liter.

Die Konzentration der Heuinfusion, in welcher die Paramäcien gezüchtet wurden, wurde auf folgende Weise untersucht. Zunächst wurde durch Bestimmung der Gefrierpunktserniedrigung mit dem BECKMANNschen Apparat die gesamte molekulare und Ionenkonzentration bestimmt. Dann wurde letztere allein untersucht, indem man die Stärke einer Natriumchloridlösung, welche dieselbe Leitfähigkeit wie Heuinfusion bei 18° C besaß, feststellte. Die H^+ - und OH^- -Ionenkonzentrationen wurden auch mittels Palladiumwasserstoffelektroden bestimmt. Endlich wurde die Konzentration der schwachen Basen durch Titration mit Salzsäure, wobei Methylorange als Indikator diente, gemessen, und diejenige der schwachen Säuren durch Titration mit Kalilauge, unter Benutzung von Phenolphthalein als Indikator.

Experimenteller Teil.

Ehe wir die über die Chemotaxis von Paramäcien gewonnenen Resultate mitteilen, wird es zunächst vorteilhaft sein, die eben er-

1) Vergl. Zeitschr. f. allg. Physiol., Bd. 4, 1904, p. 463.

wälnte Untersuchung weiter zu führen, bezüglich der Konzentration der Heuinfusion, in welcher die Paramäcien gezüchtet wurden. Alle in dieser Mitteilung beschriebenen Versuche wurden mit Paramäcien angestellt, welche derselben Infusion entnommen waren, und deren Zustand während der Versuchsdauer nicht wesentlich variierte. Andere Paramäcien enthaltende Heuinfusionen, welche auch untersucht wurden, zeigten Abweichungen in der Konzentration, welche jedoch im Vergleich mit den unten angegebenen unbedeutend waren. Die Zahl der bis jetzt ausgeführten Untersuchungen ist zu klein, um allgemeine Schlüsse zuzulassen über die durchschnittliche Zusammensetzung der Heuinfusion, welche als die geeignetste für die Züchtung von Paramäcien anzusehen ist und über die in verschiedenen Infusionen zu erwartenden Abweichungen.

Der Gefrierpunkt der bei den in Tabellen 1 bis 5 angegebenen Versuchen verwendeten Heuinfusion wurde mit der BECKMANNschen Methode zu $-0,057^{\circ}\text{C}$ bestimmt. Da der Gefrierpunkt einer normalen Lösung einer undissoziierten Substanz $-1,856$ ist, so folgt daraus, daß die Heuinfusion mit einer Lösung, welche $\frac{0,057}{1,85} = 0,031$ undissoziierte Moleküle pro Liter enthält, zu vergleichen ist, das heißt, sie ist einer 0,031 n Lösung eines Nichtelektrolyts gleich.

Die Leitfähigkeit der Heuinfusion war gleich derjenigen einer 0,006 n Kochsalzlösung (letzteres ist in dieser Konzentration zu 95 Proz. dissoziiert). Diese Bestimmung wurde gemacht durch Beobachten des Ausschlages eines empfindlichen Galvanometers, wenn eine bestimmte Potentialdifferenz zwischen zwei platinirten Elektroden in einem Widerstandsgefäß eingerichtet wurde.¹⁾ Wäre der einzige in der Heuinfusion enthaltene Elektrolyt Kochsalz, so würde die Ionenkonzentration $\frac{2 \cdot 0,006 \cdot 95}{100} = 0,0114$ n sein. Da die Natur der in Heuinfusion enthaltenen Ionen unbekannt ist, so läßt sich die tatsächliche Ionenkonzentration nicht berechnen, weshalb obige Bestimmung von 0,0114 n die genaueste ist, welche man erreichen kann.

Die Konzentration der mit schwacher Säure verbundenen Basen, welche in der Heuinfusion vorhanden waren, wurde durch Titration mit Salzsäure, unter Anwendung von Methylorange als Indikator zu 0,011 n bestimmt. Die Konzentration der im freien Zustande befindlichen resp. mit einer schwachen Base verbundenen schwachen Säuren,

1) Diese Art Vergleich ist in der Praxis bequemer als die Bestimmung der absoluten Leitfähigkeit bei der KOHLRAUSCHschen Methode.

welche in der Heuinfusion vorhanden war, wurde dadurch bestimmt, daß man die Menge Heuinfusion feststellte, welche ein gewisses Volumen einer verdünnten mit Phenolphthalein gefärbten Kalium- resp. Natriumhydroxydlösung entfärbt oder daß man die Bestimmung umgekehrt machte. Die Untersuchung der Menge schwacher Säure ist wegen der Farbe der Heuinfusion schwer auszuführen. Als Mittelwert von vier Bestimmungen wurde eine Konzentration von 0,0024 n gefunden. Die am reichlichsten vorhandene schwache Säure scheint Kohlensäure zu sein, jedoch kann man genaue Bestimmungen kaum machen, infolge der Schwierigkeit, Organismen der Heuinfusion zu entnehmen, ohne die Menge der darin vorhandenen Kohlensäure zugleich zu verändern. Wie man wohl erwarten kann, färbt Heuinfusion wegen der relativ großen Menge der darin enthaltenen Basen roten Lackmus blau.

Wenn der H^+ -Gehalt der Heuinfusion mittels einer mit Palladium-wasserstoffelektroden versehenen Konzentrationskette bestimmt wurde, so wurde bei $18^\circ C$ ein Potentialunterschied von 0,156 Volt gefunden, wenn als zweite Lösung²⁾ 0,000067 n Salzsäure verwendet wurde. Benutzt man die Formel

$$\pi = \frac{RT}{F} \ln \frac{p}{p_1}$$

worin π der Potentialunterschied der Kette ist, p die H^+ -Ionenkonzentration der Salzsäurelösung, p_1 die H^+ -Ionenkonzentration der Heuinfusion, R die Gaskonstante, T die absolute Temperatur und F die elektrische Ladung eines Grammions, so wird mit obigem Potentialunterschied

$$\log \frac{p}{p_1} = \frac{0,156}{0,058} = 2,69$$

$$\therefore \frac{p}{p_1} = 10^{2,69} = \frac{490}{1};$$

da $p = 0,000067$ ist, so ist $p_1 = \frac{0,000067}{490} = 0,000\,000\,14 = 1,4 \cdot 10^{-7}$.

Die entsprechende OH^- -Konzentration berechnet man dadurch, daß man die Wasserkonstante ($1,2 \times 10^{-14}$) durch die H^+ -Konzentration teilt; sie ist also

$$\frac{1,2 \cdot 10^{-14}}{1,4 \cdot 10^{-7}} = 0,86 \cdot 10^{-7}$$

1) Nur eine geringe Spur von Chloriden war in der zu diesen Versuchen verwendeten Heuinfusion vorhanden.

2) Zu beiden Flüssigkeiten wurde Kochsalz in 0,02 n Konzentration zugesetzt.

Eine nachfolgende Bestimmung der H^+ - und OH^- -Ionenkonzentration gab resp. $1,3 \cdot 10^{-6}$ und $0,9 \cdot 10^{-8}$. Daraus ersieht man, daß die Heuinfusion beinahe neutral war, mit anderen Worten, ihre Acidität und Alkalität lag sehr nahe an derjenigen des Wassers ($1,1 \cdot 10^{-7}$). Die vorhandenen Abweichungen der H^+ - und OH^- -Konzentration hängen vermutlich mit Veränderungen der in der Heuinfusion enthaltenen Kohlensäure zusammen.

Obige Resultate mögen folgendermaßen zusammengefaßt werden: Undissoziiert molekulare Konzentration der Heu-

infusion	0,031 n
Ionenkonzentration	0,0114 n (ungefähr)
Konzentration der mit schwachen Säuren verbundenen Basen	0,011 n
Konzentration der schwachen Säuren, frei oder mit schwachen Basen verbunden	0,0024 n
H^+ -Ionenkonzentration	0,00000014 n
OH^- -Konzentration	0,00000009 n

Im folgenden Teil dieser Arbeit werde ich auf diese Resultate wieder Bezug nehmen.

Die mit Palladiumwasserstoffelektroden bestimmte OH^- -Konzentration des destillierten Wassers, welches zu den in den Tabellen angegebenen Versuchen benutzt wurde und welches mittels eines Stromes CO_2 -freier Luft von Kohlensäure befreit war, betrug $2,7 \cdot 10^{-6}$ Grammionen pro Liter.

Eine Reihe von Versuchen, welche angestellt wurden, um das Verhältnis der Konzentration zur Chemotaxis, mit besonderer Rücksicht auf die bei *Paramecium aurelia* beobachtete Chemotaxis, zu veranschaulichen, wird in den Tabellen 1—4 dargestellt. Alle Versuche wurden bei $18^\circ C$ mit Paramäcien von derselben Kultur ausgeführt. In den Tabellen 1 und 3 waren die Paramäcien in destilliertem Wasser enthalten, in welches sie 3—24 Stunden vorher hineingesetzt waren; das destillierte Wasser wurde kurz vor den Versuchen durch frisches wieder ersetzt. In den Tabellen 2 und 4 dagegen waren die Paramäcien noch in der Flüssigkeit, in welcher sie gezüchtet worden waren, enthalten. Bei jedem Versuche wurden auch 2 Kontrollröhren, welche destilliertes Wasser resp. Heuinfusion enthielten, benutzt; die Einrichtung ist in der Textfigur gezeigt. Nach Verlauf von 15 Minuten von Anfang des Versuches an wurden die Röhren, eine nach der anderen, aus der Schale fortgenommen und die Zahl der darin enthaltenen Paramäcien unter dem Mikroskope bestimmt. Wenn die Zahl 30 nicht überschreitet, so ist es leicht,

Tabelle 1.
Versuche mit in destilliertem Wasser enthaltenen Paramäcien.

Nummer des Ver- suches	Angewendete Säure		Röhren be- obachtet nach Verlauf von	Zahl der Paramäcien		
				in Säurelösung	in destillier- tem Wasser	in Heu- infusion
1	HCl	0,0001 n	30 Minuten	2 (2 mm)	80	1
2	"	0,00002 "	15 "	70*	70*	3
	"	0,00002 "	30 "	80	150	2
3	HNO ₃	0,0001 "	15 "	40* (6 ")	100*	0
	"	0,0001 "	30 "	41 (9 ")	200	0
4	"	0,00002 "	15 "	20 (3 ")	0	0
	"	0,00002 "	30 "	20 (6 ")	0	0
5	H ₂ SO ₄	0,0001 "	15 "	80* (7 ")	90*	0
	"	0,0001 "	30 "	130	110	2
6	"	0,00002 "	15 "	40*	60*	0
	"	0,00002 "	30 "	80	83	0
7	HCOOH	0,0001 "	15 "	50* (7 ")	40*	1
	"	0,0001 "	30 "	180	120	0
8	"	0,00002 "	15 "	45*	3	1
	"	0,00002 "	30 "	110	48	0
9	COOH COOH	0,0001 "	15 "	30 (3 ")	70*	0
	"	0,0001 "	30 "	90 (9 ")	160	0
10	"	0,00002 "	15 "	70*	50*	0
	"	0,00002 "	30 "	96	156	0
11	CH ₃ COOH	0,0002 "	15 "	1 (1 ")	9	1
	"	0,0002 "	30 "	2	113	0
12	"	0,00004 "	15 "	19 (2 ")	10	0
	"	0,00004 "	30 "	76 (4 ")	55	0
13	H ₃ BO ₃	0,25 "	15 "	0	6	0
	"	0,25 "	30 "	0	60	1
14	"	0,05 "	15 "	14	70*	0
	"	0,05 "	30 "	19	83	0
15	H ₂ CN	0,30 "	15 "	0	9	2
	"	0,30 "	30 "	0	71	1
16	"	0,06 "	15 "	15 (2 ")	2	5
	"	0,06 "	30 "	31 (2 ")	23	0

die Paramäcien zu zählen, darüber hinaus aber konnte ihre Zahl, was in den Tabellen durch einen * angedeutet ist, wegen ihrer beständigen Bewegung nur annähernd bestimmt werden. Nach dem Zählen wurde jede Röhre mit ihrem unteren Ende in die Schale gestellt, und nach Verlauf von 15 Minuten wurden die Paramäcien wieder gezählt, indem man sie, wenn sie zahlreich vorhanden waren, vorher mittels Essigsäure tötete. Versuche mit Säure- und Alkalilösungen wurden gewöhnlich gleichzeitig angestellt, wie es in der Textfigur angedeutet ist. Die unteren Enden der Röhren wurden soweit wie möglich voneinander getrennt.

In der 2. Spalte der Tabellen findet sich die benutzte Säure- resp. Alkalikonzentration, in der 3. Spalte der Zeitraum, nach welchem die Paramäcien, welche in den Röhren mit 1) Säure oder Alkali,

Tabelle 2.
Versuche mit in destilliertem Wasser enthaltenen Paramäcien.

Nummer des Ver- suches	Angewendetes Alkali		Röhren be- obachtet nach Verlauf von	Zahl der Paramäcien		
				in Alkalilösung	in destillier- tem Wasser	in Heu- infusion
1	KOH	0,001 n	15 Minuten	0	100*	0
	"	0,001 "	30 "	0	198	0
2	"	0,0002 "	15 "	1	1	0
	"	0,0002 "	30 "	0	6	0
3	NaOH	0,001 "	15 "	0	8	—
3a	"	0,001 "	30 "	0	80	—
4	"	0,0002 "	15 "	45*	70*	3
	"	0,0002 "	30 "	85	151	2
5	LiOH	0,001 "	15 "	5	40*	1
	"	0,001 "	30 "	5	120	0
6	"	0,0002 "	15 "	18	3	1
	"	0,0002 "	30 "	25	48	0
7	Ca(OH) ₂	0,001 "	15 "	0	90*	0
	"	0,001 "	30 "	0	110	2
8	"	0,0002 "	15 "	0	60*	0
	"	0,0002 "	30 "	0	80	0
9	Sr(OH) ₂	0,001 "	15 "	0	9	1
	"	0,001 "	30 "	0	113	0
10	"	0,0002 "	15 "	1 (1 mm)	10	0
	"	0,0002 "	30 "	3 (1 ")	55	0
11	Ba(OH) ₂	0,001 "	15 "	0	70*	0
	"	0,001 "	30 "	0	160	0
12	"	0,0002 "	15 "	0	50*	0
	"	0,0002 "	30 "	0	153	0
13	NH ₄ OH	0,0005 "	15 "	0	6	0
	"	0,0005 "	30 "	1 (1 ")	60	1
14	"	0,0001 "	15 "	90*	70*	0
	"	0,0001 "	30 "	97	83	0
15	C ₆ H ₅ NH ₂	0,05 "	15 "	0	9	2
	"	0,05 "	30 "	1 (1 ")	71	1
16	"	0,01 "	15 "	0	2	5
	"	0,01 "	30 "	0	23	0

2) destilliertem Wasser und 3) Heuinfusion enthalten sind, gezählt wurden. Die bei entsprechenden Versuchen verwendeten Säure- resp. Alkalilösungen sind nahezu gleich tödlich wirkend. Z. B. tötete eine 0,0001 n Salzsäurelösung die aus der Heuinfusion unmittelbar herausgenommenen Paramäcien nach 10 Minuten und dieselben Organismen, nachdem sie vorher noch während 24 Stunden in destilliertem Wasser gewesen waren, nach 12 Minuten; auch tötete eine 0,002 n Kaliumhydroxydlösung Paramäcien unter denselben Umständen nach 4 resp. 5 Minuten. Bei den Versuchen wird jede Säure und jedes Alkali zunächst darauf geprüft, in welcher Konzentration sie die Paramäcien nach 10—40 Minuten töten, dann in einem Fünftel dieser Konzentration zum Versuche benutzt.

Aus der ersten Tabelle ersieht man, daß Paramäcien, welche

24 Stunden lang vor dem Versuche in destilliertem Wasser geblieben sind, ziemlich zahlreich in destilliertes Wasser enthaltende Röhren hineingehen, jedoch stark die Röhren meiden, welche die Heuinfusion, in welcher sie gezüchtet waren, enthalten. In Röhren, welche die starken mineralischen Säuren Salzsäure, Schwefelsäure und Salpetersäure, resp. die schwächeren organischen Säuren Ameisensäure, Oxalsäure und Essigsäure, resp. die extrem schwachen Elektrolyte Borsäure und Blausäure, enthalten, gehen die Paramäcien häufig mit gleicher oder selbst mit größerer Schnelligkeit, als in Röhren, welche destilliertes Wasser enthalten, hinein, manchmal in geringerer Zahl, jedoch ist der Unterschied in diesem Verhalten der Paramäcien bezüglich der beiden Konzentrationen gar nicht so auffallend, wie man erwarten könnte. Vergrößert man aber die stärkere Säurekonzentration um das 3- bis 5-fache, dann werden die Säure enthaltenden Röhren stark gemieden. Ferner beobachtet man, daß, zumal wenn man die stärkeren Konzentrationen verwendet, die Paramäcien nur einige Millimeter in die Röhren hineingehen, statt durch ihre ganze Länge. Wenn dies bei den Versuchen geschah, so ist die zurückgelegte Strecke durch die in Klammern in der 4. Spalte der Tabellen gegebenen Zahlen angegeben. In dieser wie in den anderen Tabellen ist es zu bemerken, daß es keine quantitative Regelmäßigkeit in den gewonnenen Resultaten gibt; dieses wollen wir zweckmäßig an dieser Stelle noch besprechen. Läßt man die durch Unterschiede im Durchmesser der Röhren verursachten Verschiedenheiten außer acht, welche, obgleich sie, wie früher erwähnt, in verschiedenen Versuchen ungleich, jedoch in jedem einzelnen Versuche beinahe ganz gleich waren, und welche die Zahl der Paramäcien, die in Röhren von gleichem Durchmesser hineingehen, gleich beeinflussen, so müssen wir doch an den Umstand denken, daß zwei dieselbe Flüssigkeit enthaltende Röhren, welche in eine Paramäcien enthaltende Flüssigkeit gleichmäßig hineingebracht wurden, doch die Paramäcien in verschiedenen Mengen aufnehmen. Ferner verteilen sich die Paramäcien zuweilen unregelmäßig in einer Schale, in welche keine Röhren hineintauchen. Zwar sollte man denken, daß die Differenz der Zahl in verschiedenen, mit derselben Flüssigkeit gefüllten Röhren von gleichem Durchmesser nicht beträchtlich sei, doch sind gelegentlich große Differenzen von 50 Proz. oder mehr vorhanden. Deshalb muß man von vornherein erwarten, daß bis zu gewissem Grade ein Mangel an Regelmäßigkeit in den Versuchen vorkommen wird, und infolgedessen kann man nur diejenigen Unterschiede berücksichtigen, welche relativ beträchtlich oder mindestens in einer

Tabelle 3.
Versuche mit in Heuinfusion enthaltenen Paramäcien.

Nummer des Ver- suches	Angewendete Säure		Röhren be- obachtet nach Verlauf von	Zahl der Paramäcien		
				in Säurelösung	in destillier- tem Wasser	in Heu- infusion
1	HCl	0,0001 n	4 Minuten	4 (5 mm)	16	9
		0,0001 "	16 "	5 (5 ")	50	37
2	"	0,00002 "	15 "	50*	40*	70*
		0,00002 "	30 "	216	62	169
3	HNO ₃	0,0001 "	15 "	4 (6 ")	2	17
		0,0001 "	30 "	1 (8 ")	4	25
4	"	0,00002 "	15 "	4	1	35
		0,00002 "	30 "	2	6	35
5	H ₂ SO ₄	0,0001 "	15 "	5 (7 ")	1	26
		0,0001 "	30 "	2 (9 ")	1	28
6	"	0,00002 "	15 "	0	1	36
		0,00002 "	30 "	40	0	45
7	HCOOH	0,0001 "	15 "	30 (6 ")	5	70*
		0,0001 "	30 "	70	3	273
8	"	0,00002 "	15 "	50*	12	50*
		0,00002 "	30 "	83	60	163
9	COOH COOH	0,0001 "	15 "	17 (10 ")	15	200*
		0,0001 "	30 "	60 (10 ")	56	208
10	"	0,00002 "	15 "	70*	60*	150*
		0,00002 "	30 "	167	85	203
11	CH ₃ COOH	0,0002 "	15 "	21 (2 ")	0	27
		0,0002 "	30 "	18 (2 ")	0	110
12	"	0,00004 "	15 "	24	29	65*
		0,00004 "	30 "	63	33	218
13	H ₃ BO ₃	0,25 "	15 "	5 (2 ")	4	15
		0,25 "	30 "	19 (4 ")	25	120
14	"	0,05 "	15 "	27 (9 ")	12	90*
		0,05 "	30 "	40 (7 ")	66	211
15	H ₄ CN	0,30 "	15 "	0	8	0
		0,30 "	30 "	0	27	25
16	"	0,06 "	15 "	17 (6 ")	23	27
		0,06 "	30 "	24 (6 ")	62	183

großen Anzahl von Versuchen immer vorhanden sind. In den vorliegenden Versuchen war es zuweilen unsicher, ob die Röhren wirklich ganz gleichmäßig hergestellt waren, um Paramäcien aufzunehmen, und deshalb wurde beschlossen, in jedem Versuche zwei Beobachtungen nach Verlauf von 15 resp. 30 Minuten anzustellen, da dies die Wegnahme und das Wiederhineinbringen jeder Röhre nacheinander in einer neuen Stellung veranlaßte. Das Nichthineingehen von Paramäcien in die destilliertes Wasser enthaltende Röhre im 4. Versuche, Tabelle 1, ist eine zufällige Erscheinung, für welche keine Erklärung zu finden ist.

In Tabelle 3 findet sich eine Reihe von Versuchen, ähnlich wie in Tabelle 1, mit der Abweichung, daß die verwendeten Para-

Tabelle 4.

Versuche mit in Heuinfusion enthaltenen Paramäcien.

Nummer des Ver- suches	Angewandetes Alkali		Röhren be- obachtet nach Verlauf von	Zahl der Paramäcien		
				in Alkalilösung	in destillier- tem Wasser	in Heu- infusion
1	KOH	0,001	n 15 Minuten	0	2	17
		0,001	30 "	0	4	25
2	"	0,0002	" 15 "	1	1	35
		0,0002	" 30 "	0	6	35
3	NaOH	0,001	" 6 "	0	16	9
		0,001	" 20 "	1 (2 mm)	51	36
4	"	0,0002	" 15 "	45*	40*	70*
		0,0002	" 30 "	60	60	169
5	LiOH	0,001	" 15 "	9 (5 ")	5	70*
		0,001	" 30 "	45	3	267
6	"	0,0002	" 15 "	15 (4 ")	12	50*
		0,0002	" 30 "	55	60	158
7	Ca(OH) ₂	0,001	" 15 "	1 (3 ")	1	26
		0,001	" 30 "	0	1	28
8	"	0,0002	" 15 "	0	1	36
		0,0002	" 30 "	3	0	45
9	Sr(OH) ₂	0,001	" 15 "	4	0	27
		0,001	" 30 "	35	0	110
10	"	0,0002	" 15 "	11 (4 ")	29	65*
		0,0002	" 30 "	21	33	222
11	Ba(OH) ₂	0,001	" 15 "	1 (2 ")	15	200*
		0,001	" 30 "	3 (3 ")	56	208
12	"	0,0002	" 15 "	25 (6 ")	60*	150*
		0,0002	" 30 "	55	86	203
13	NH ₄ OH	0,0005	" 15 "	0	4	15
		0,0005	" 30 "	10	25	120
14	"	0,0001	" 15 "	26	12	90*
		0,0001	" 30 "	78	60	212
15	C ₆ H ₅ NH ₂	0,05	" 15 "	6 (3 ")	8	0
		0,05	" 30 "	1	27	25
16	"	0,01	" 15 "	5 (3 ")	23	27
		0,01	" 30 "	2 (3 ")	62	180

mäcien in der Heuinfusion enthalten waren, in welcher sie gezüchtet worden waren. Die sauren Lösungen waren dieselben, wie sie in Tabelle 1 angegeben sind, und jeder in Tabelle 3 angeführte Versuch folgte sofort dem entsprechenden Versuche in Tabelle 1. Aus diesen Versuchen ersieht man, daß viele Paramäcien in die Heuinfusion enthaltenden Röhren hineingehen, während nur eine geringe Zahl in die destilliertes Wasser resp. Säure enthaltenden Röhren geht. Die Zahl der Paramäcien, die in die Säure enthaltenden Röhren hineingehen, ist zuweilen geringer, zuweilen größer als diejenige der Paramäcien, die in die destilliertes Wasser enthaltenden Röhren hineingehen, jedoch ist die Differenz weder in dem einen noch in dem anderen Falle einwandfrei deutlich. In mehr als der Hälfte der Säure enthaltenden Röhren gingen die Paramäcien nur bis in die

halbe Länge der Röhren hinein. Vergleicht man Tabelle 3 mit Tabelle 1, so sieht man, daß in Heuinfusion enthaltene Paramäcien nicht so zahlreich wie die vorher in destilliertem Wasser gehaltenen Paramäcien weder in die starke noch in schwache Säurelösung gehen. Diesen Unterschied bemerkt man deutlich, wenn man die Zahl der Paramäcien, die in die Säure enthaltenden Röhren hineingehen, in Prozentsen zu denjenigen, die in die destilliertes Wasser enthaltenden Röhren der ersten Tabelle oder denjenigen, die in die Heuinfusion enthaltenden Röhren der dritten Tabelle hineindringen, ausdrückt. Diese Berechnung findet sich in Tabelle 5, in welcher das schließliche Resultat jedes in den Tabellen 1 und 3 ausgeführten Versuches wiedergegeben ist.

Tabelle 5.
Zusammenfassung von den Tabellen 1—4.

	Paramäcien in destilliertem Wasser enthalten		Paramäcien in Heuinfusion enthalten	
	stärkere Konzentration	schwächere Konzentration	stärkere Konzentration	schwächere Konzentration
HCl	2,5	53,3	13,5	127,8
HNO ₃	20,5	—	4,0	5,7
H ₂ SO ₄	118,0	96,4	7,2	88,9
HCOOH	130,0	230,0	25,6	51,0
COOH	54,2	61,5	28,8	82,3
CH ₃ .COOH	1,8	138,0	16,4	28,9
H ₃ BO ₃	0,0	22,9	15,8	18,9
HCN	0,0	135,0	0,0	13,1
KOH	0,0	0,0	0,0	0,0
NaOH	0,0	56,3	2,8	35,5
LiOH	4,2	52,2	16,9	34,8
Ca(OH) ₂	0,0	0,0	0,0	6,7
Sr(OH) ₂	0,0	5,5	31,8	9,5
Ba(OH) ₂	0,0	0,0	1,4	27,1
NH ₄ OH	1,7	116,8	8,3	36,8
C ₆ H ₅ NH ₂	1,4	0,0	4,0	1,1

In Tabelle 2 wird die chemotaktische Reaktion von Paramäcien auf ungefähr gleichmäßig toxisch wirkende basische Lösungen angegeben. Die Paramäcien, welche in destilliertem Wasser enthalten sind und welche gewöhnlich in die destilliertes Wasser enthaltenden Röhren hineingehen, meiden am deutlichsten die Heuinfusion enthaltenden Röhren. Auch zeigen sie eine fast eben so große Abneigung gegen die verwendeten basischen Lösungen, mit Ausnahme hauptsächlich der schwächeren Konzentrationen der Hydroxyde von Natrium, Lithium und Ammonium. Letzteres steht in offenem

Widersprüche mit der relativ geringen Abneigung der in destilliertem Wasser enthaltenen Paramäcien gegen Säuren (Tabelle 1). Es ist zu beachten, daß, obgleich die stärkeren und schwächeren Konzentrationen der Säuren und Alkalien gleich toxisch wirken, doch die äquivalenten Konzentrationen der beiden Reihen im Verhältnis von 1:10 stehen (d. h. für Säuren 0,0001 n und 0,00002 n und für Alkalien 0,001 n und 0,0002 n).

Tabelle 4 zeigt eine Reihe von den in Tabelle 2 angegebenen ähnlichen Versuchen, mit dem Unterschiede, daß die Paramäcien in der Heuinfusion geblieben sind, statt in destilliertes Wasser übertragen zu werden. Hier gehen wieder die Organismen, welche leicht in Heuinfusion enthaltende Röhren hineingehen, in destilliertes Wasser resp. basische Lösungen enthaltende Röhren weniger leicht. Die Abneigung gegen destilliertes Wasser zeigt sich in dieser Tabelle weniger deutlich als gegen Heuinfusion in Tabelle 2, wie auch das Meiden der basischen Lösungen enthaltenden Röhren. Diese Verhältnisse treten sehr deutlich hervor bei einem Blick auf Tabelle 5, in welcher das schließliche (d. h. nach Verlauf von 30 Minuten) Resultat jedes in Tabelle 2 gegebenen Versuches im Prozentgehalt der Paramäcien, welche in der entsprechenden, mit destilliertem Wasser gefüllten Kontrollröhre enthalten sind, ausgedrückt ist; ebenso ist das Endresultat jedes in Tabelle 4 angegebenen Versuches gleichfalls in Prozentgehalt der Paramäcien, welche in der entsprechenden, Heuinfusion enthaltenden Kontrollröhre vorhanden sind, ausgedrückt. In Tabelle 4 ist die Zahl der Paramäcien, welche sich in destilliertes Wasser enthaltenden Röhren vorfinden, zuweilen niedriger, zuweilen höher, als diejenige der Paramäcien, welche sich in basische Lösungen enthaltenden Röhren finden, jedoch läßt sich kein deutliches Ueberwiegen in einer Richtung feststellen. In dieser Hinsicht kann man eine Parallele zwischen dieser Tabelle und Tabelle 2 ziehen.

Es entsteht nun die Frage, wie lange die in den Röhren vorhandene Konzentration von Säure resp. Alkali unverändert bleibt. Drei Umstände können eine Konzentrationsverminderung bewirken: 1) Diffusion, 2) Strömungen, welche die Paramäcien hervorrufen, wenn sie in die Röhre hineingehen resp. aus der Röhre herauskommen, und 3) Neutralisation, hervorgerufen durch Unreinigkeiten im destillierten Wassers, Löslichkeit des verwendeten Glases und Absorption von Kohlendioxyd aus der Luft. Die Diffusion geht so langsam vor sich, daß man ihren Einfluß während der kurzen Dauer des Versuches vernachlässigen kann. Der Einfluß der durch Paramäcien erzeugten Strömungen muß beträchtlich sein, wenn man

Heuinfusion in der Schale verwendet, da diese Flüssigkeit eine relativ große Menge sowohl von schwacher Base (0,011 n vergl. oben) als auch von schwacher Säure (0,0024 n) enthält, und deshalb die in den Röhren enthaltenen stärkeren Säuren und Alkalien zu neutralisieren vermag. Die dadurch bewirkte Konzentrationsminderung ist natürlich um so größer, je größer die Zahl der in die Röhren hineingehenden Paramäcien ist, mit anderen Worten: je schwächer die verwendete Säure und das Alkali ist, desto schneller wird ihre Konzentration resp. Reaktion vermindert werden. Enthält die Uhrschale destilliertes Wasser, so werden die Bewegungen der Paramäcien weniger schnell eine Verminderung der Reaktion hervorrufen, da hierbei nur Verdünnung und keine Neutralisation eintritt. Der Einfluß des dritten Faktors ist nicht zu bestimmen, da die erforderlichen Daten nicht vorhanden sind. Doch weist ein Umstand, welcher sich in vielen Versuchen bemerkbar macht, darauf hin, daß bei Abwesenheit von Strömungen in der Flüssigkeit, hervorgerufen durch Paramäcien, keine beträchtliche Konzentrationsveränderung der in den Röhren enthaltenen Flüssigkeit stattfindet, nämlich die Tatsache, daß die Paramäcien, welche in eine Säure resp. Alkalien enthaltende Röhre in geringer Menge hineingehen, doch nur eine kurze Strecke hineingehen, welche letztere ganz allmählich zunimmt. Auch sind einige der so hineingehenden Paramäcien nicht selten am Schlusse des Versuches tot. Nachdem die Röhren aus der Schale herausgenommen worden sind, gehen die darin enthaltenen Paramäcien erst nach Verlauf einer beträchtlichen Zeit an der Röhre entlang. Deshalb ist es wahrscheinlich, daß, wenn nur wenige Paramäcien in eine Röhre hineingehen, die Konzentration von darin enthaltener Säure oder Alkali nur wenig verändert wird während der 30 Minuten, welche der Versuch dauert. Interessant ist es, zu bemerken, daß Paramäcien, wenn sie von Heuinfusion in eine destilliertes Wasser enthaltende Röhre hineingehen, sich überall in der Röhre verteilen, und daß ebenso Paramäcien, welche aus destilliertem Wasser in eine Heuinfusion enthaltende Röhre hineingehen, keine bestimmte Neigung zeigen, nur in dem unteren Teile der Röhre zu bleiben.

Eine genauere Durchsicht der in den Tabellen angegebenen Versuche wie auch weiterer, mit verschiedenartigen Kulturen von Paramäcien unter verschiedenen Bedingungen ausgeführter Versuche gestattet weitere Schlüsse über die Beziehung zwischen Chemotaxis und Konzentration in Hinsicht auf Paramäcien.

1) Erstens sei erwähnt, daß die Versuche eine wahre negative Chemotaxis zeigen. In den Versuchen ist die Abneigung der Para-

mäcien auffallend, in alkalische Lösungen enthaltende Röhren, welche die in der Uhrschale vorhandene Flüssigkeit enthalten, hineinzugehen. Die Abneigung der Paramäcien, in Säure enthaltende Röhren hineinzugehen, ist in den Tabellen 1 und 3 relativ weniger auffallend; benutzt man jedoch 0,001 n Säure statt 0,0001 n, so wird die Abneigung der Organismen stark zum Ausdruck gebracht. Falls die Konzentration der Säuren resp. Alkalien weniger als 0,00001 n ist, so ist die Abneigung der Tiere nicht mehr deutlich.

2) Wird jedoch die Frage der positiven Chemotaxis betrachtet, so findet man, daß, obgleich Paramäcien bereitwillig in Röhren, welche genügend verdünnte Säure- resp. Alkalilösungen enthalten, hineingehen, sie auch bereitwillig in Kontrollröhren hineingehen, welche dieselbe Flüssigkeit (vorher von Organismen durch Zentrifugieren befreit), in welcher die Paramäcien gezüchtet werden, enthalten. Vergleicht man ferner die Zahl der in Röhren vorhandenen Paramäcien, in welchen eine unter 0,00002 n Säure- resp. Alkalikonzentration vorhanden ist, mit der Zahl der in den Kontrollröhren enthaltenen Paramäcien, so findet man, daß die erstere, obwohl zuweilen größer als die letztere, doch kein deutliches Ueberwiegen über die letztere zeigt, und zwar findet man die beobachteten Abweichungen auch in zwei gleichen, dieselbe Flüssigkeit enthaltenden Röhren, welche in dieselbe Paramäcien enthaltende Lösung eintauchen. Wiederholte Versuche, die darauf hinzielten, eine Konzentration von Säure resp. Alkali zu finden, welche einwandfrei eine größere Anziehung auf Paramäcien ausübte als die Flüssigkeit, in welcher letztere enthalten waren, waren immer erfolglos. Daraus folgt, daß Säure- und Alkalilösungen bezüglich der Paramäcien positive Chemotaxis nur in dem Sinne zeigen, daß diese Tiere bereitwillig in Röhren gehen, welche solche Lösungen in genügender Verdünnung enthalten. Jedoch kann man nicht schließen, daß Säuren und Alkalien eine spezifische Anziehungskraft ausüben, sondern man darf im Gegenteil behaupten, daß sie einen zurückstoßenden Einfluß auf Paramäcien ausüben, welches Zurückstoßen verschwindet, wenn die Ionenkonzentration sich der des Wassers nähert. Hiernach wirft sich die Frage auf: Wovon hängt die positive Chemotaxis ab, welche man bemerkt, wenn man das untere Ende einer engen, mit destilliertem Wasser gefüllten Röhre in destilliertes Wasser, welches Paramäcien enthält, hineinbringt, resp. wenn man das untere Ende einer engen, mit Heuinfusion gefüllten Röhre in Heuinfusion, welche Paramäcien enthält, hineinbringt. Die Faktoren, von welchen dieses Phänomen abhängt, sind wahrscheinlich vielfach und in verschiedenen Versuchen von

ungleicher Bedeutung. Bei Abwesenheit eines genügend stark zurücktreibenden Einflusses wird 1) die natürliche Neigung der Paramäcien, in der Flüssigkeit, in welcher sie leben, unregelmäßig zu wandern, dazu führen, daß viele Paramäcien in die Röhre hineingehen. Wenn sie einmal in der Röhre sind, so tritt 2) die Schwierigkeit des Heraustretens aus der Röhre hinzu, da die Paramäcien keine Kenntnis der Lage der Wand, ehe sie dagegen stoßen, zu haben scheinen, ebenso scheinen sie die Oeffnung der Röhre nur mit Schwierigkeit finden zu können. Deshalb kann die Zahl der Tiere in der Röhre zunehmen. Ein weiterer Faktor ist 3) die Geotaxis; da die Röhren schräg liegen, werden die Paramäcien, wenn sie negativ geotaktisch sind, meistens am oberen Ende der Röhre sich ansammeln. Zuweilen ist diese Erscheinung deutlich zu sehen, doch kommt sie unregelmäßig vor. Es ist wohl bekannt, daß Paramäcien innerhalb eines kurzen Zeitraumes eine merkliche Veränderung ihrer Geotaxis zeigen können. Das bei diesen Versuchen benutzte Zentrifugieren zur Trennung der Paramäcien von der Flüssigkeit, in welcher sie gezüchtet wurden, wirkte gewöhnlich so, daß die Tiere positive Geotaxis zeigten, welche nach 30—60 Minuten in eine allmähliche Verteilung der Tiere durch die Flüssigkeit, in welcher sie waren, überging und später in negative Galvanotaxis endete. Ein weiterer Faktor, welcher den Aufenthalt der Tiere in den Röhren bestimmt, ist 4) die Thigmotaxis. Zuweilen übt die innere Oberfläche der Röhre eine unregelmäßige Anziehungskraft auf Paramäcien, welche ungleich verteilt sind, aus, deren Ursache gar nicht klar ist. Nicht selten kommt es vor, daß in Röhren, welche dieselbe Flüssigkeit wie die Uhrschele (s. Textfigur) enthalten, eine Gruppe von 40 oder mehr Paramäcien nahe der Mitte der Röhre bemerkbar ist, indem die übrige Flüssigkeit ganz oder teilweise von Paramäcien frei ist. Obwohl es klar zu sein scheint, daß die Ansammlung von Paramäcien vom Zustande der Röhre und auch der Schale beeinflußt sein kann, ist dieser Zustand leider nicht vorher zu untersuchen. Endlich sei 5) erwähnt eine noch nicht näher analysierte Neigung der Paramäcien, sich anzusammeln, welche noch unabhängig von den anderen Faktoren zu existieren scheint.

Die Frage, ob Paramäcien wirklich positiv chemotaktisch sind, ist schon von JENNINGS¹⁾ erörtert. Er sagt: „The first one or two days after the transfer (to distilled water) is made the animals are

1) Studies on reactions to stimuli in unicellular organisms. Journ. of Physiol., Vol. 21, 1897, p. 258.

excessively sensitive to all chemicals, showing marked negative chemiotaxis to almost all substances tested, and positive chemiotaxis to almost none. But after three or four days or a week in distilled water their conduct becomes quite normal except that they are much more sensitive to chemical agents than under normal circumstances ¹⁾.“

Nach weiteren Versuchen fand JENNINGS, daß, nachdem die Paramäcien mehrere Tage in destilliertem Wasser geblieben waren, sie stärker negativ chemotaktisch gegen die Substanzen wurden, gegen welche sie gewöhnlich negativ chemotaktisch waren; auch wurden sie stärker positiv chemotaktisch gegen die Substanzen, gegen welche sie in der Flüssigkeit, in welcher sie lebten, gewöhnlich positiv chemotaktisch waren; jedoch war die positive Chemotaxis viel geringer und „occurs when the Paramaecia are in distilled water only with very weak solutions, and all stronger solutions of the same substance act negatively“ (p. 273).

Jedoch ist hierbei zu bemerken, daß die Bedingungen, unter welchen JENNINGS' Versuche ausgeführt wurden, uns im Zweifel lassen über die Reaktion der Raummenge der Flüssigkeit, welche positive Chemotaxis zeigte. Wenn Paramäcien mehrere Tage in destilliertem Wasser bleiben, sterben einige der Tiere und es erscheinen Bakterien und Infusorien verschiedener Arten; alsdann wird die Flüssigkeit vielleicht rotes Lackmuspapier schwach bläuen und es sind schwache Basen in Mengen vorhanden, welche genügen, um eine kleine Quantität verdünnter Säure zu neutralisieren ²⁾. In JENNINGS' Versuchen ist es auch zweifelhaft, wie lange die verwendeten Tropfen Flüssigkeit ihre Alkalität resp. Acidität behalten.

Die Ansammlung von Paramäcien in destilliertem Wasser läßt sich nach JENNINGS dadurch erklären, daß sie von dem von Paramäcien erzeugten Kohlendioxyd hervorgerufen wird. Jedoch mindert den Wert dieser Erklärung der Umstand, daß es dabei nötig ist, anzu-

1) p. 272.

2) Es wurde bemerkt, daß, wenn man zu 5 ccm 0,0001 n HCl (gefärbt mit Methylorange) destilliertes Wasser hinzufügt, in welchem eine sehr große Zahl Paramäcien (ca. 500 000 Paramäcien in 40 ccm) 4 Tage lang bei 18° C aufbewahrt waren, die Farbe von rot zu gelb umschlug, sobald 12 ccm Flüssigkeit (von Paramäcien durch Zentrifugieren befreit) hinzugefügt wurde. Wie weit dieses Resultat durch Substanzen, welche entweder von Paramäcien oder Bakterien abgesondert sind, beeinflusst ist, bleibt zweifelhaft.

nehmen, daß zunächst die Tiere lediglich zufällig zusammenkommen ¹⁾. Das Phänomen ist also zuerst ein bloßer Zufall und dann, wenn eine genügende Zahl Paramäcien sich angesammelt und eine genügende Menge CO₂ erzeugt haben, sammeln sie sich weiter an infolge der CO₂-Produktion. Doch ist zu bemerken, daß man in der Tat nichts über die wirkliche Konzentration von CO₂ innerhalb des untersuchten Raumes der Flüssigkeit weiß; es wird angenommen und die Annahme ist wahrscheinlich, daß freies Kohlendioxyd vorhanden ist, aber dieselbe ist nur eine Behauptung, nicht eine festgestellte Tatsache. Ferner erscheint diese Erklärung deshalb unwahrscheinlich, weil sie voraussetzt, daß die Lebensbedingungen der Paramäcien sich durch mehr oder weniger zufällige Veränderungen in ihrer Umgebung regeln ohne Beziehung auf etwa einen dadurch bedingten Vorteil resp. Nachteil ²⁾.

1) Loc. cit., p. 291. „A certain number of paramaecia strike by chance against a bit of decaying vegetable material and remain there. The water in this region then becomes more strongly charged with CO₂ than elsewhere, owing to its excretion here by this collection of paramaecia. This region then becomes a centre of attraction for other paramaecia, owing to their positive chemotaxis towards CO₂; so all collect here.“

Dieselbe Erklärung wird jedoch als genügend erachtet, wo es sich um destilliertes Wasser enthaltende Kapillarröhren handelt. Auf p. 297 wird gesagt: „Certain paramaecia stray by chance into the tube and there of course produce CO₂, which is prevented from diffusing others accidentally entering the mouth of the tube are attracted by this CO₂ and likewise remain. Thus the production of carbon dioxide increases till the gas perhaps begins finally to diffuse about the mouth of the tube. Thereupon it becomes a centre of attraction for other paramaecia until at last all the animals in the dish are gathered in an assemblage about the mouth of the tube or within it.“

2) Loc. cit., p. 318. „We must not forget that paramaecium is repelled by a concentration of CO₂ that is strong enough to be injurious. This would seem to make it probable that such solutions of CO₂ as are attractive, are so because they are beneficial. That carbon dioxide should serve any beneficial purpose in the animal cell seems however on general grounds highly improbable, and this improbability is increased by the fact that the CO₂ by which the paramaecia are attracted is excreted by the paramaecia themselves. It seems exceedingly paradoxical that an organism should excrete a substance to which it is strongly attracted. Yet this undoubtedly the case. The paradox seems almost to rise to an absurdity however if it is held that the animals are attracted to this substance because they need it; in that case why should it have been excreted?“

Es ist nicht unwahrscheinlich, daß, wenn wir die Taxis von Paramäcien zu erklären versuchen, wir einen zu engen Gesichtspunkt annehmen und unser Augenmerk zu sehr auf die Abweichungen der Acidität resp. Alkalität richten, und dabei außer acht lassen, daß das Reagieren der Paramäcien eine Anpassung der Tiere an Veränderungen ihrer Umgebung darstellt, infolgedessen dasselbe vielleicht vielmehr bloß als eine Folge von Veränderungen der chemischen Zusammensetzung der Flüssigkeit, in welcher sie leben, anzusehen ist, und daß die Art der Reaktion durch viele Faktoren und nicht allein durch Acidität oder Alkalität bedingt ist. Es ist klar, daß es für einen Organismus wie *Paramecium* sehr wichtig ist, in feinsten Weise auf die Verhältnisse seiner Umgebung zu reagieren. Infolgedessen kann man wohl annehmen, daß wenn Paramäcien in ein neues Medium resp. ein neues Gefäß kommen, die neue Umgebung einen sehr komplizierten Einfluß auf ihre Tätigkeit ausüben wird, obgleich das Medium lediglich als Flüssigkeit betrachtet innerhalb gewisser Grenzen nicht günstig für ihr Leben sein könnte. In einem solchen Fall würden wir eine positive Taxis bemerken, welche von der chemischen Zusammensetzung der Flüssigkeit, in welche die Paramäcien kämen, ganz unabhängig sein würde und meine Versuche über die Reaktion von in destilliertem Wasser enthaltenen Paramäcien auf Röhren, die destilliertes Wasser enthielten, resp. von in Heuinfusion enthaltenen Paramäcien auf Röhren, mit Heuinfusion gefüllt, scheinen nur dadurch zu erklären zu sein, daß die zu betrachtende Taxis von Faktoren abhängig ist, welche nur wenig von der Anwesenheit von Säuren resp. Alkalien, in subminimal tödlich wirkender Konzentration beeinflußt werden. Eben der Einfluß dieser Faktoren ist mit den jetzigen zur Verfügung stehenden Methoden nicht zu bestimmen; ebenso ist es unmöglich, die Existenz dieser Faktoren qualitativ darzustellen. Deshalb sind Vermutungen über ihre Wirkung bezüglich der Taxis von Paramäcien unzweckmäßig und wertlos.

3) Untersucht man den Grad der Chemotaxis von Paramäcien gegen Säuren und Alkalien, so findet sich ein unerwarteter Mangel von Parallelismus zwischen tödlich wirkendem Einfluß und entsprechender chemotaktischer Reaktion. In den Tabellen sind die stärkeren Säure- und Alkalikonzentrationen beinahe gleich toxisch, jedoch wirken letztere stark negativ chemotaktisch. Verwendet man aber äquimolekulare Lösungen (vergl. die chemotaktische Reaktion von 0,0001 n Säurelösungen mit derjenigen von 0,0002 n Alkali-

lösungen in Tabellen 1—4)¹⁾, so läßt sich die Taxis von Paramäcien gegen Säuren und Alkalien besser vergleichen.

4) Der Grad der Chemotaxis von Paramäcien gegen Säuren und Alkalien ändert sich, wenn man die Organismen aus Heuinfusion in destilliertes Wasser hineinsetzt. Vergleicht man die Tabellen 1 und 2 mit den Tabellen 2 und 4, so sieht man, daß in destilliertem Wasser die Paramäcien ein stärkeres Meiden der Röhren zeigen, welche Alkali enthalten, und eine größere Bereitwilligkeit gegen Röhren, welche Säure enthalten, als Paramäcien in Heuinfusion. Dieses Resultat erinnert an die Versuche von DALE²⁾, welcher fand, daß die von ihm untersuchten Infusorien der Eingeweide verschieden in Säure- und Alkalilösung reagieren, da sie in den ersteren an Alkalilösungen gehen, in den letzteren an Säurelösungen. Infolge der außerordentlichen Empfindlichkeit von Paramäcien, wie auch wegen der Schwierigkeit, die Konzentration der sehr verdünnten Lösungen, welche allein zu solchen Versuchen verwendbar sind, unverändert lange Zeit zu halten, kann man diese Versuche mit Paramäcien nicht leicht wiederholen. Doch ist es von Interesse zu bemerken, daß in der verwendeten Heuinfusion, welche eine 0,01 n basische Lösung darstellte, wenngleich nicht eine alkalische Lösung in des Wortes strengster Bedeutung, die gefundene Chemotaxis, mit derjenigen von destilliertem Wasser verglichen, die entgegengesetzte war, wie sie in Infusorien enthaltenden Alkalilösungen von DALE beobachtet wurde.

5) Die Erscheinungen der Chemotaxis sind nicht zu erklären ausschließlich durch die Acidität resp. Alkalität der verwendeten Lösungen. Daß diese nicht die einzigen sie bedingenden Faktoren sind, sieht man in den Tabellen sehr auffallend, wenn man das Verhalten von in Heuinfusion enthaltenen Paramäcien gegen Röhren, welche destilliertes Wasser enthalten, resp. von in destilliertem Wasser enthaltenen Paramäcien gegen Röhren, welche Heuinfusion enthalten, betrachtet. In beiden Fällen werden die Röhren von den Tieren streng gemieden, zumal im letzteren Falle. Ein solches Meiden kann man sich aus dem geringen Unterschied der Acidität

1) In den Tabellen 1—4 sind die Lösungen der schwachen Elektrolyte Borsäure, Blausäure und Ammoniak beinahe ganz gleich toxisch mit denjenigen der stärkeren Säuren und Alkalien. Die entsprechenden Ionenkonzentrationen wird man in der schon erwähnten Arbeit, in der Zeitschr. f. allg. Physiol., Bd. 4, 1904, p. 446 finden.

2) Galvanotaxis and chemiotaxis of ciliate infusoria, Journ. of Physiol., Vol. 26, 1900—1901, p. 291.

resp. Alkalität der beiden Lösungen nicht erklären, da letztere viel zu klein ist, um einen merkbaren Einfluß auf die Chemotaxis auszuüben. Auch ist es unwahrscheinlich, daß eine große Veränderung der Paramäcien durch Hineinbringen derselben in destilliertes Wasser hervorgerufen wird, da in diesen Versuchen die Tiere in jeder Flüssigkeit in demselben Zeitraume von Säure- und Alkalilösungen getötet wurden. Ferner sei erwähnt, daß weder Heuinfusion noch destilliertes Wasser als giftige Flüssigkeiten zu betrachten sind, da Paramäcien wochenlang in beiden Flüssigkeiten leben. Der Unterschied der beiden Flüssigkeiten besteht hauptsächlich in der Konzentration, und es ist klar, daß das Meiden der Röhren seitens der Paramäcien dadurch verursacht wird, daß sie eine Veränderung der Konzentration zu vermeiden suchen. Dieser Faktor muß natürlich eine Rolle bei der Chemotaxis gegen Säuren und Alkalien spielen. Um nun zu entscheiden, inwiefern für letztere eine rein physikalisch-chemische Erklärung annehmbar ist, und wie weit daneben eine chemische Reaktion zwischen Protoplasma und Säure resp. Alkali stattfindet, braucht man eine feinere Untersuchungsmethode für Chemotaxis und auch neue Untersuchungen über die Permeabilität von Paramäcien. Wie man wohl erwarten kann, ist die Empfindlichkeit von in destilliertem Wasser enthaltenen Paramäcien gegen Heuinfusion, welche eine basische Lösung von 0,01 n Konzentration darstellt (vergl. Tabellen 1 und 2) größer, als diejenige von in Heuinfusion enthaltenen Paramäcien gegen destilliertes Wasser (vergl. Tabellen 3 und 4).

6) Endlich sei nochmals erwähnt, daß die Taxis von Paramäcien gegen destilliertes Wasser und Heuinfusion ganz und gar nicht bedeutet, daß diese Flüssigkeiten einen schädlichen Einfluß auf Paramäcien ausüben. Mit anderen Worten, es gibt nicht nur keinen Parallelismus zwischen dem Maße der Toxizität einerseits und dem Grade des beobachteten Meidens der Paramäcien von Säuren und Alkalien andererseits, wie schon in Abschnitt 3 erwähnt ist, sondern negative Chemotaxis an sich bietet keine Feststellung, nicht einmal irgend welche Wahrscheinlichkeit, daß die gemiedene Flüssigkeit schädlich ist.

Zusammenfassung.

Die aus dem Vorhergehenden resultierenden wichtigsten Punkte sind folgende:

- 1) Paramäcien zeigen aufs deutlichste negative Chemotaxis gegen tödlich wirkende Säure- und Alkalilösungen.
- 2) Paramäcien gehen bereitwillig in Röhren, welche sehr ver-

dünnte Säure- resp. Alkalilösungen enthalten, doch ist ihre Zahl geringer oder gleich der Zahl der Tiere, die in Röhren gehen, welche dieselbe Flüssigkeit enthalten, in welcher die Paramäcien leben. Zuweilen überwiegen die ersteren gegenüber den letzteren, jedoch kann man keine Bevorzugung seitens der Paramäcien von Säure- resp. Alkalilösungen feststellen; es scheint keine spezifische Anziehung von Säure resp. Alkali vorhanden zu sein in irgend einer Verdünnung. Die sogenannte positive Chemotaxis von Paramäcien gegen Säuren und Alkalien muß also in Wirklichkeit nur als eine Phase negativer Chemotaxis betrachtet werden.

3) Es gibt keinen Parallelismus zwischen a) der auf Paramäcien tödlich wirkenden Konzentration von Säuren und Alkalien und b) der entsprechenden chemotaktischen Reaktion dieser Tiere.

4) Die Taxis von Paramäcien wird verändert, wenn die Paramäcien aus Heuinfusion in destilliertes Wasser hinübergehen.

5) Chemotaxis ist nicht bloß aus der Acidität resp. Alkalität der verwendeten Lösungen zu erklären. Selbst schon eine einfache Konzentrationsveränderung ist ein wichtiger Faktor bei der Entstehung dieser Erscheinung.

6) Negative Chemotaxis bedeutet nicht notwendigerweise, daß die gemiedene Flüssigkeit toxisch wirkt.

Im Anschluß hieran fühle ich mich verpflichtet, Herrn Prof. VERWORN meinen verbindlichsten Dank auszusprechen für die vielseitige Anregung und Unterstützung, deren ich mich bei der Ausführung der Versuche zu erfreuen hatte.

durch Säuren „accentuiert“ wurde. Diese Veränderung in den Färbereigenschaften der Zelle, welche nach gründlichem Waschen in destilliertem Wasser und Alkohol fortbesteht, beruht auf einer Verstärkung der normalen Verbindung mit dem blauen Radikal des Farbstoffes, während die sich normal rot färbenden Zellenbestandteile purpurn oder bläulich von Farbe werden, indem das basische Radikal des Farbstoffes das Bestreben äußert, das saure Radikal zu ersetzen. So färbt sich der Kern tiefblau und das Zellenprotoplasma nimmt eine diffuse blau oder purpurne Farbe an mit einer roten Tönung oder auch wohl ohne eine solche dicht am Außenrand der Zelle. Die oxyphilen normal im Cytoplasma vorhandenen Granula sind nicht erkennbar, obwohl sich eine leichte Tendenz zu granulösem Aussehen bemerkbar macht. Der Inhalt der Vakuolen nimmt zuweilen eine bläuliche Färbung an, zuweilen bleibt er klar. Die ungefärbten Teile der Zelle, d. h. die Pellicula, die Trichocysten und Zellenkristalle sind ihrem Aussehen nach unverändert. Die Cilien sind häufig nicht wahrnehmbar; in Fig. 3 sind sie teilweise zu erkennen, doch sind sie größtenteils so verändert, daß man sie, einzeln genommen, nicht zu unterscheiden vermag, da sie, zu einer breiten Schicht verschmolzen, um die Außenwand der Zelle herum gelagert sind.

Werden Paramäcien der Einwirkung von Alkalien ausgesetzt, so wechselt die Wirkung betreffs der Färbereaktion, je nachdem die angewandte Konzentration derjenigen gleicht oder um ein geringes größer ist als eine solche, welche die Organismen in 20—30 Minuten tötet, oder ob sie beträchtlich über diese Stärke hinauskommt. Wenn Paramäcien in eine 0,001 N-Lösung von Natronlauge oder Kalilauge oder Barythydrat, Strontiumhydrat oder Calciumhydrat oder in eine um ein geringes schwächere Lösung von Ammoniak gebracht werden, so tritt der Tod nach Verlauf von ungefähr einer halben Stunde ein und zieht schnell den Zerfall des Zellenprotoplasmas nach sich. Wenn vor Eintritt des Zerfalls die Zelle gründlich in Alkohol gewaschen und dann mit Methylenblau-Eosin gefärbt wird, so ist keine bestimmte Veränderung in der Färbereaktion zu verzeichnen. In dieser Hinsicht ist das Verhalten des *Paramaecium* dasselbe wie bei sauren Lösungen von ähnlich tödlicher Konzentration. Mit bloßem Auge sind die Paramäcien unverändert, aber bei mikroskopischer Prüfung erscheint die Zellenpellicula nicht selten verschwommen und das Zellenprotoplasma zeigt oft eine Neigung zum Zerfall. Kein Bestreben nach Verstärkung der rot gefärbten Zellenbestandteile ist wahrnehmbar, auch erweist sich die vorhandene basophile Materie nicht geneigt zu weniger starker Färbung.

Wenn jedoch Paramäcien der längeren Einwirkung einer stärkeren

Lösung von Natronhydrat oder Kalihydrat ausgesetzt werden, dann verändert sich die Färbereaktion in auffallender Weise. Zuzufolge der auflösenden Wirkung von Natronhydrat oder Kalihydrat in wässriger Lösung müssen alkoholische Lösungen Verwendung finden. Werden nun die Paramäcien zwei Stunden lang in eine 0,02 N-Lösung von Natronhydrat oder Kalihydrat, die 50 oder mehr Proz. Alkohol enthält, gebracht, so tritt kein Zerfall ein. Bei gründlichem Spülen in Alkohol und darauf folgendem Färben mit Methylenblau-Eosin stellt sich heraus, daß das Alkali die Färbereaktion in derselben Weise verändert hat, in der es das Protoplasma von Zellen in Gewebeschnitten angreift, nämlich durch auffällige Schwächung der Verbindung der Zellenbestandteile mit dem basischen Radikal des Farbstoffes, während die Verbindung mit dem sauren Radikal gesteigert ist (Fig. 4). Das Zellenprotoplasma nimmt eine diffuse rote Färbung an, während jedoch die basophilen Granula undeutlich oder nicht wahrnehmbar sind. Die in der Zelle vorhandene basophile Materie ist nur schwach blau gefärbt. Der Inhalt der Vakuolen ist gewöhnlich klar. In dem Aussehen der Kristalle ist keine Veränderung zu erkennen. Der Nucleus weist eine schwache blaue Färbung auf. Keine Trichocysten sind erkennbar, auch die Zellenpellicula läßt sich nicht erkennen. Die Cilien erscheinen zuweilen als ein homogenes breites Band um die Außenwand der Zelle.

Im Anschluß hieran mag auf die Wirkung des konstanten Stromes auf die Färbereaktion von Paramäcien hingewiesen werden, ein Punkt von beträchtlichem Interesse, seit LOEB und BUDGET¹⁾ VERWORN²⁾ Erklärung der Galvanotaxis, daß dieselbe eine Reaktion auf einen einseitig auf den Organismus einwirkenden Reiz sei, einen Schritt weiter zu führen versuchten, indem sie die Hypothese aufstellten, daß der konstante Strom eine Entwicklung von Säure bzw. Alkali an den spitzen bzw. geschwollenen Endpolen des Organismus hervorruft. Diese Erklärung, welche auf der Ähnlichkeit der durch Alkalien erzeugten Schwellung mit der in dem der Kathode zugewandten Teile der Zelle vorkommenden Schwellung beruht, ist in Ermangelung weiterer Beweise von DALE³⁾ in Frage gezogen worden. Es ist unverkennbar von Wichtigkeit, Gewißheit darüber zu erlangen, inwiefern die durch den konstanten Strom veränderte Färbereaktion der Paramäcien mit der durch die Einwirkung von Säuren, bzw.

1) PFLÜGERS Archiv, Bd. 65, 1897, p. 518.

2) PFLÜGERS Archiv, Bd. 45, 1889, p. 1; Bd. 46, 1890, p. 267; Bd. 62, 1896, p. 415; Bd. 65, 1897, p. 47.

3) Journ. of Physiol., Bd. 26, 1900—1901, p. 291—361.

Alkalien an Paramäcien hervorgerufenen Färbereaktion in Einklang zu bringen ist.

Zu diesem Zwecke wurden Paramäcien, die in destilliertes Wasser mit einem Zusatz ¹⁾ einer geringen Menge von Chlornatrium gebracht, waren, dem Einfluß des konstanten Stromes ausgesetzt und zwar so lange, bis der Zerfall des Zellenprotoplasmas auf dem Punkte stand, sich zu vollziehen. Dann wurden die Organismen in Alkohol gebracht und mit Methylenblau-Eosin gefärbt.

Das typische Aussehen eines derartig gefärbten *Paramaecium* ist in Fig. 5 zu sehen. Das anodische Ende ist spitz und zusammengezogen, während das kathodische Ende geschwollen und im Begriff ist, zu zerfallen. Die Zellenpellicula ist an dem spitzen Endpol unversehrt und ist auch an einem Teil des geschwollenen Endes erkennbar, aber sonst ist sie nirgends festzustellen. Die Färbereaktion des *Paramaecium* wird nur quantitativ affiziert, insofern sie durch die Schwellung und Verdichtung des Zellenprotoplasmas vermindert oder gesteigert ist, aber es tritt keine qualitative Veränderung ein. An dem spitzen Ende finden sich die oxyphilen Granula zahlreich, und das Cytoplasma erscheint von tieferer Farbe, während an der geschwollenen Extremität diese Granula durch Flüssigkeit weiter von einander getrennt liegen, und die Färbung des Cytoplasmas entsprechend heller ist. Die Färbung der basophilen Materie in dem Zellenprotoplasma ist nicht affiziert, ebenso die des Nucleus. Die übrigen Zellenbestandteile werden von dem Farbstoff nicht angegriffen. In Fig. 6 ist ein anderes *Paramaecium* veranschaulicht, das nicht denselben Kontrast an den beiden Enden aufweist, welchen Fig. 5 zeigt. Dieser Umstand rührt davon her, daß der Organismus durch Strömungen, die oft in der die Paramäcien enthaltenden Flüssigkeit entstehen, bewegt worden ist, so daß nacheinander verschiedene Teile der Zelle nach demselben Pole gerichtet wurden. Ueberdies ist die Schwellung des Cytoplasmas hinreichend gewesen, um die Zellenpellicula zu sprengen und das Entweichen eines Teils des Zelleninhaltes zu veranlassen. Ein Teil der Zellenpellicula ist so von dem Rest der Zelle getrennt worden und zeigt die gewöhnliche Längsstreifung. Die oxyphilen Granula sind deutlich zu sehen. Der Nucleus ist eingeschrumpft, aber der Charakter seiner Färbereaktion ist unverändert.

Es läßt sich ersehen, daß die Färbereaktion des durch den konstanten Strom getöteten *Paramaecium* parallel derjenigen eines durch

1) Annähernd gleich einer 0,003 N-Lösung von NaCl.

die Minimaleinwirkung von Säuren und Alkalien getöteten Organismus ist.

Bevor dieser Abschnitt geschlossen wird, möge der folgende Kommentar über das Vorangegangene hier Platz finden.

Bei Betrachtung des Verhältnisses der Chemotaxis in Bezug auf Säuren und Alkalien zu der Färbereaktion des Zellenprotoplasmas kann nur die Reihe von Erscheinungen in Betracht kommen, die eintreten, wenn Paramäcien in Lösungen von schwacher Konzentration gebracht werden, und die sich ergebende Wirkung sistiert wird, sobald der Tod der Organismen erfolgt, da ja diese Wirkung sich am lebenden Protoplasma äußert und mit dem Tode desselben aufhört, da also der Organismus nicht länger im stande ist, irgend einen defensiven Prozeß in Bezug auf Säuren und Alkalien zu entwickeln.

Wenn dahingegen Flüssigkeiten von bedeutend über den Tötungspunkt hinausreichender Konzentration verwandt werden, so macht sich die Wirkung von Säuren und Alkalien nicht länger auf das lebendige Protoplasma geltend (außer während der sehr kurzen Zeitperiode, welche solche Flüssigkeiten erfordern, um ihre tödliche Wirkung hervorzubringen), sondern auf totes Protoplasma, und solche Wirkung hat keinen Bezug auf Chemotaxis, wofern nicht erwiesen werden kann, daß der Unterschied der Wirkung in den beiden Fällen nur ein gradueller ist. Das letztere aber scheint nicht der Fall zu sein, da die Wirkung betreffs der Färbereaktion in beiden Fällen ganz verschieden ist. So stellt sich, wenn Säuren und Alkalien von minimal tödlicher Konzentration benutzt werden, keine Veränderung der Färbereaktion mit Methylenblau-Eosin an Paramäcien heraus, indem die gefärbten Organismen nicht zu unterscheiden sind von solchen Paramäcien, die in ähnlicher Weise gefärbt wurden, ohne vorher der Einwirkung von Säuren und Alkalien ausgesetzt worden zu sein.

Verursacht dahingegen die verlängerte Einwirkung von Säuren und Alkalien auf Paramäcien eine Steigerung des basischen bzw. sauren Färbens, so tritt eine chemische Verbindung des Protoplasmas mit Säuren und Alkalien ein, welche die Affinität für Farbradikale derjenigen Zellenbestandteile beeinflusst, deren Moleküle geeignete haptophore Seitengruppen besitzen. Wenn das Verhältnis der haptophoren Seitengruppen unverändert ist wie bei den durch saure und alkalische Lösungen von minimal tödlicher Konzentration getöteten Paramäcien, dann vollzieht sich notwendigerweise keine solche Veränderung in der Affinität der Zellenbestandteile für das Farbradikal.

Vielleicht kommt keine Verbindung mit Säuren und Alkalien vor, aber wenn sie eintritt, muß sie von ganz anderem Charakter sein als die, welche vorkommt, wenn totes Protoplasma mit Säure oder Alkali gesättigt wird. Man muß jedoch bedenken, daß der Fall, in welchem keine Veränderung in der Färbereaktion als das Ergebnis der Einwirkung von Säure und Alkali von minimal tödlicher Konzentration eingetreten ist, nicht die Möglichkeit der Verbindung von Säure und Alkali mit gewissen Zellenbestandteilen ausschließt, etwa mit Cilien oder der Zellenpellicula, die zuerst dieser Einwirkung angesetzt werden, und deren Substanz keine für die benutzten Farbstoffe haptophoren Gruppen enthält. Die Entscheidung dieses Falles geht über den Zweck der gegenwärtigen Erforschung der Färbereaktion hinaus. Es muß hier wieder betont werden, daß wir bei Aufstellung der Behauptung, daß keine Veränderung der Färbereaktion durch minimal tödliche Konzentrationen von Säure und Alkali hervorgerufen wird, nur sagen können, daß keine Verbindung mit den färbbaren Bestandteilen vorkommt, die die Affinität der haptophoren Seitengruppen für Farbradikale vermehren oder vermindern würde, während hinsichtlich des Verhältnisses der normal unfärbbaren Zellenbestandteile keine nähere Angabe gemacht werden kann.

Das Ergebnis der Einwirkung des konstanten Stromes auf Paramäcien, das in Bezug auf Veränderung der Färbereaktion negativ zu nennen ist, und in dieser Hinsicht dem von Säuren und Alkalien von minimal tödlicher Konzentration gleicht, erlaubt infolge seines negativen Charakters keine Schlußfolgerung über seine wesentliche Ähnlichkeit mit den im zweiten Falle vorkommenden Vorgängen.

Chemische Reaktion des Paramaeciums.

Ehe auf die nähere Bestimmung der chemischen Reaktion eingegangen wird, ist es nötig, festzustellen, was unter Neutralität zu verstehen ist. Theoretisch nennt man eine Flüssigkeit neutral, wenn ihre H^+ - und OH^- -Ionen in gleichen Mengen vorhanden sind, und da diese Ionen ein starkes Bestreben äußern, sich miteinander zu verbinden, indem sie Wasser bilden, so ist die Konzentration von H^+ - und OH^- -Ionen in einer neutralen Flüssigkeit die ionische Konzentration von reinstem erhältlichem Wasser, welches nach ARRHENIUS, WYS und KOHLRAUSCH $1,5 \times 10^{-7}$ Ionogrammäquivalente pro Liter¹⁾ enthält. Im Falle von komplexen organischen Flüssigkeiten ver-

1) VAN'T HOFF, Vorlesungen über theoretische und physikalische Chemie, Bd. 1, 1898, p. 126.

hindern unvermeidliche experimentelle Schwierigkeiten eine gleich feine Bestimmung durch physikalisch-chemische Methoden oder mittels Indikatoren von H^+ - und OH^- -Ionisation. Daher hat FRIEDENTHAL angeregt, daß alle Flüssigkeiten als neutral betrachtet werden sollten, in welchen die Summe von H^+ - oder OH^- -Ionen nicht 1×10^{-6} pro Liter übersteigt, und daß nur diese Grenzen übersteigende Flüssigkeiten sauer oder alkalisch genannt werden sollten.

Wie schon früher in dieser Mitteilung berichtet worden, ist die zwecks Prüfung der chemischen Reaktion von Paramäcien angewandte Methode die der Benutzung von Indikatoren. Diese Methode bietet infolge ihrer leichten und schnellen Anwendbarkeit Vorteile, welche von beträchtlicher Wichtigkeit sind bei der Behandlung von so leicht veränderlichem Material, wie es das Protoplasma ist. Die Feinheit dieser Methode in Bezug auf ihre Anwendung bei lebendigem Protoplasma wird jedoch infolge des Umstandes bedeutend vermindert, daß nur eine ganz geringe Menge Materie zur Beobachtung herangezogen werden kann. So ist es bei dem Paramaecium, einem Organismus von verhältnismäßig großem Umfange, wegen der Undurchsichtigkeit des Protoplasmas nicht möglich, die Farbereaktion ²⁾ einer Säule festen Protoplasmas ³⁾ von mehr als zwei Millimeter im Durchmesser zu untersuchen, und da die Farbereaktion nicht erkennbar ist, wenn die Konzentration weniger als 1×10^{-4} H^+ - oder OH^- -Gramm-ion pro Liter beträgt, so bildet diese Konzentration die äußerste Grenze der in diesen Versuchen wahrzunehmenden Acidität und Alkalinität. Das Zellenprotoplasma von Paramäcien ist überdies infolge des Vorhandenseins von Exkretkörnern oder Kristallen von dunkler Farbe, so daß ein durch die Gegenwart eines Indikators bedingter Farbwechsel nicht so deutlich wie im Falle von farblosen Flüssigkeiten ⁴⁾ wahrgenommen werden kann. Tatsächlich wird die Grenze der Anwend-

1) l. c., p. 406.

2) Die benutzten Indikatoren waren Methylorange, Kongorot, Lakmoid, Lackmus, sulphalizarinsaures Natron, Neutralrot, Rosolsäure, b-Nitrophenol und Phenolphthaleïn.

3) Erhalten durch Zentrifugieren der Paramäcien. Eine Zentrifugalkraft von 756 in Gravitationseinheiten (Rotationsradius 15 cm; Drehungsgeschwindigkeit 3000 pro Minute) schlägt die Paramäcien in 10 Sekunden nieder.

4) Die Exkretkörper oder Krystalle können von jeglicher Farbe bis zu schwarz sein, ohne ihr starkes Brechungsvermögen zu verlieren. Die Nahrungsmassen sind ebenfalls häufig von dunkler Farbe. Die letzteren färben sich weniger dunkel während der Inanition.

barkeit von Indikatoren auf die Bestimmung der Ionkonzentration in diesen Versuchen durch aH^+ - oder OH^- -Konzentration von ungefähr 1×10^{-3} Gramm-ion pro Liter dargestellt. Von den benutzten Indikatoren sind die zweckmäßigsten Methylorange und Phenolphthalein, die in den eben erwähnten Konzentrationen genügend gefärbt sind, um praktischen Wert zu besitzen. Wenn der Indikator in zu großer Menge angewandt wird, liegt die Gefahr nahe, daß sich die Farbe infolge von Massenwirkung ¹⁾ verändert.

Um die Reaktion von toten Paramäcien zu prüfen, wurden die vorher 24 Stunden in destilliertem Wasser untergebrachten Organismen durch Hitze oder Alkohol getötet und darauf mit einer Lösung von 0,001 Grammäquivalent pro Liter des Indikators (die im Falle von Phenolphthalein 5 oder mehr Proz. Alkohol enthielt) vermischt, um nach Verlauf von 30 Minuten bis 24 Stunden zentrifugiert zu werden, so daß eine Säule von 2 mm Durchmesser sich bildete. Weder mit Phenolphthalein noch mit Methylorange war irgend eine rote Färbung bei den in dieser Weise behandelten Paramäcien bemerkbar. Ein entsprechendes Ausbleiben des Farbwechsels war mit den andern oben erwähnten Indikatoren zu verzeichnen, die, in derselben Weise angewandt, doch im allgemeinen sich weniger zweckmäßig als die beiden ersten erwiesen. Es folgt daraus, daß die Ionisation des toten Protoplasmas in Bezug auf Säure und Alkali weniger als die einer 0,001 N.-Konzentration von H^+ oder OH^- -Ionen beträgt, indem diese Konzentration die Grenze der angewandten Untersuchungsmethode darstellt.

Die Reaktion von lebendem Protoplasma wurde in derselben Weise geprüft. Wenn Paramäcien in einer 0,0001 N.-Lösung von Methylorange aufbewahrt worden sind, in welcher sie 24 Stunden oder länger leben, so ist in einer 2 mm dicken, durch Zentrifugieren gewonnenen Säule keine rote Färbung festzustellen. In einer 0,0001 N.-Lösung von Phenolphthalein ist es infolge der Gegenwart von Alkohol, der erforderlich ist, um das Phenolphthalein in aufgelöster Form zu erhalten, nicht möglich, Paramäcien während einer so langen Zeitdauer lebendig zu erhalten. Wurden jedoch lebende Paramäcien in einer 0,0001 N.-Lösung von Phenolphthalein aufbewahrt, bis sie bewegungslos wurden, oder für eine längere Zeitdauer in Lösungen von schwächerer Konzentration, so war bei darauf folgendem Zentrifugieren in keinem Versuche eine rote Färbung zu erkennen. In

1) Cp. FRIEDENTHAL, l. c.

einer 0,001 N-Lösung von Methylorange oder Phenolphthalein sterben Paramäcien innerhalb einer halben Stunde, ohne irgend eine rote Färbung zu entwickeln. Aus diesen Versuchen ergibt sich, daß die Reaktion des lebendigen Protoplasmas weniger als eine 0,001 N-Konzentration von H^+ - oder OH^- -Ionen beträgt.

Werden Paramäcien in eine 0,0001 N-Lösung von Salzsäure getaucht, so werden sie schnell bewegungslos und sterben innerhalb 2—10 Minuten. Wenn sie darauf eilig zentrifugiert und dann in destilliertem Wasser untergebracht werden, das einen hinreichenden Zusatz von Methylorange bekommen hat, um eine rötlichgelbe Färbung zu bewirken, und werden sie dann nach verschiedenen Zeiträumen zur besseren Beobachtung ihrer Färbung wieder zentrifugiert, so stellt sich heraus, daß das Zellenprotoplasma stets frei von einer roten Färbung bleibt, selbst wenn die Flüssigkeit, in welche die Paramäcien getaucht worden sind, infolge von unvollständigem Spülen derselben eine hellrote Färbung aufweist. Sogar wenn die Organismen der Einwirkung von Säure auf längere Zeit, als zum Töten derselben erforderlich ist, ausgesetzt werden, ist doch keine Spur einer roten Anfärbung des Protoplasmas bemerkbar. Aus dieser Tatsache, daß das Protoplasma des *Paramaecium* nach seinem durch Säure veranlaßten Tode von Methylorange ungefärbt bleibt, ergibt sich also, daß die Säure keine lose Verbindung mit dem Protoplasma eingeht; und aus der weiteren Tatsache, daß das Cytoplasma sich nicht anfärbt, obwohl die Flüssigkeit, in welche die Organismen getaucht sind, eine Färbung zeigt, ist ersichtlich, daß entweder keine Verbindung mit dem Protoplasma stattfindet, oder wenn eine solche vorkommt, sie eine feste irreversible ist. Es ist zu erwähnen, daß in diesen Versuchen die Wirkung der Säure ausgesetzt wurde, sobald oder kurz nachdem der Tod der Paramäcien eingetreten war, gewöhnlich nach Verlauf von 10 Minuten. Diese Beobachtungen wurden mit Hilfe von Salz-, Salpeter- und Schwefelsäure gemacht; bei schwächeren Säuren kann Methylorange nicht verwendet werden.

Wenn lebende Paramäcien in eine 0,001 N.-Lösung von Kalihydrat, Natronhydrat, Ammoniak¹⁾, Calciumhydrat, Strontiumhydrat und Barythydrat gebracht werden, bis der Tod derselben eintritt, zeigt sich bei nachfolgendem Zusatz von Phenolphthalein, dem eiliges Waschen in destilliertem Wasser vorangegangen ist oder auch nicht, daß das Zellenprotoplasma des Organismus ermangelt, eine rosa

1) Phenolphthalein reagiert schwach mit Ammoniak.

Färbung anzunehmen und in der Tat vollkommen untingiert bleibt, selbst wenn die Flüssigkeit, in welche die Organismen getaucht werden, infolge der Gegenwart von Alkali gerötet ist. Aus diesen oftmals wiederholten Beobachtungen muß ein Schluß formuliert werden, der sich ähnlich dem in den oben erwähnten Versuchen über die Wirkung von Säuren auf lebendiges Protoplasma erlangten Schlusse gestaltet, daß nämlich keine lose Verbindung von Alkali mit dem Zellenprotoplasma zu stande kommt, und daß daher die chemische Wirkung von Alkalien auf lebendiges Protoplasma entweder in der Bildung einer festen Verbindung mit dem Protoplasma bestehen oder von katalytischem Charakter sein muß.

Ueber die Wirkung des konstanten Stromes auf Paramäcien wurden Untersuchungen angestellt, indem die Organismen in Methylorange oder Phenolphthalein untergebracht wurden, sobald sie durch den Strom getötet waren, oder sobald sie, ohne getötet zu sein, die wohlbekannte Schwellung an einem Ende und die Kontraktion an der entgegengesetzten Extremität des Zellenkörpers zeigten. In keinem Falle war eine rosa Anfärbung irgend eines Teiles des Organismus zu verzeichnen. Diese Versuche wurden variiert, indem die Infusorien in eine 0,001 N-Lösung von Methylorange oder Phenolphthalein getaucht, in welcher sie schnell starben, und dann die getöteten Organismen der Einwirkung des konstanten Stromes ausgesetzt wurden. Das Ergebnis war unveränderlich negativ, soweit es die Entwicklung einer rosa Färbung anbetraf.

Vor Schluß dieses Abschnittes mögen die folgenden nachträglichen Bemerkungen über die angewandte Methode sich hier anschließen. An erster Stelle muß darauf hingewiesen werden, daß Indikatoren möglicherweise nicht denselben Wert für lebendiges wie für totes Protoplasma besitzen, da das erstere vielleicht die benutzten Indikatoren mit der Bildung von Leukoverbindungen reduziert, und daher dürfen mit Indikatoren erhaltene negative Resultate nicht ohne einen gewissen Grad von Zurückhaltung betrachtet werden. Zweitens muß gezeigt werden, daß Indikatoren nur den Grad von Acidität und Basicität messen, d. h. die Ionisation in Bezug auf H^+ - und OH^- -Ionen, aber nicht die Gesamtmenge der vorhandenen organischen Säure oder Base. Mit anderen Worten: es wird nur jener Teil der organischen Säuren oder Basen durch Indikatoren ermittelt, welcher dissociiert ist, während der vielleicht relativ beträchtliche undissociierte Teil nicht in Betracht kommt, wenn Indikatoren benutzt werden. Das Studium von Säuren und Basen, die außerordentlich wenig disso-

ciert sind, liegt jedoch außerhalb des Gesichtskreises der vorliegenden Blätter, da solche Substanzen nicht merklich die Reaktion des Zellprotoplasmas affizieren können, welche letztere allein Gegenstand dieser Untersuchung ist.

Zusammenfassung.

1) Wenn Paramäcien Säuren oder Alkalien von einer in 20—30 Minuten tödlich wirkenden Konzentration ausgesetzt werden, wird die Färbereaktion der Organismen nicht angegriffen.

2) Wenn Paramäcien Säuren und Alkalien von höherer Konzentration auf verlängerte Zeitdauer ausgesetzt werden, so entsteht die wohlbekannte Erscheinung der „Accentuierung“ der basischen bzw. sauren Färbung. Allein dies beruht auf einer das Protoplasma nach dem Tode ergreifenden Veränderung und ist daher von anderer Art als die in Bezug auf chemotaktische Phänomene in Betracht kommende Veränderung.

3) Durch den konstanten Strom getötete Paramäcien gleichen den durch Säuren und Alkalien von minimal tödlicher Konzentration getöteten Paramäcien in Bezug auf das Fehlen irgend einer Veränderung der Färbereaktion.

3) Die chemische Reaktion des Protoplasmas von Paramäcien kann in Bezug auf eine Konzentration von H^+ - und OH^- -Ionen, die weniger als 0,001 N beträgt, mittels Indikatoren nicht bestimmt werden. Innerhalb dieser Grenze verrät das Protoplasma, ob lebendig oder tot, keine Spur einer sauren oder alkalischen Reaktion.

5) Das Protoplasma der durch mineralische Säuren oder durch Alkalien von niedriger Konzentration getöteten Paramäcien weist keine saure oder alkalische Reaktion mit Methylorange oder Phenolphthalein auf.

6) Durch den konstanten Strom getötete Paramäcien zeigen keine saure oder alkalische Reaktion.

Zum Schluß ergreife ich noch die Gelegenheit, Herrn Prof. VERWORN für seine mir in gütigster Weise bei dieser Arbeit gewährte Unterstützung meinen wärmsten Dank auszusprechen.

Tafelerklärung.

Die Zeichnungen von *Paramecium Aurelia* sind sämtlich unter einer Vergrößerung von 535:1 hergestellt, und mit Ausnahme von Fig. 2 sind die Organismen in einer 5-proz. Lösung von Methylenblau-Eosin in Methylalkohol gefärbt, darauf in absolutem Alkohol gewaschen, durch Xylol gezogen und in Canadabalsam aufbewahrt.

Fig. 1. Gesundes *Paramecium*, durch Hitze getötet, während welches Prozesses der Organismus verkürzt und verdickt wurde. Diese und die folgenden Figg. 3—6 sollten mit Fig. 2 verglichen werden, welche ein nach derselben Skala gezeichnetes *Paramecium* darstellt, das nicht die Konturveränderung aufweist, welche die der Einwirkung von Fixativen ausgesetzten *Paramecien* zeigen. Die Figur läßt die oesophageale Furche sehen, aber der Oesophagus selbst ist nicht zu erkennen. Das Zellenprotoplasma weist eine zahlreiche Menge feiner oxyphiler Granula, deren Durchmesser zwischen $0,4\ \mu$ bis $1,0\ \mu$ wechselt, auf und zeigt viele Vakuolen mit klarem Inhalt. Einige blau gefärbte Massen finden sich bei diesem *Paramecium* im Zellenprotoplasma vor, sind jedoch nicht im mikroskopischen Bilde. Eine Anzahl Exkretkörper oder Kristalle sind gegen das aborale Ende des Organismus hin sichtbar. Der blau gefärbte Nucleus bietet ein wolkiges Aussehen, aber zeigt keine bestimmte Struktur. Die Zellenpellicula ist ungefärbt. Trichocysten und Cilien sind nicht sichtbar.

Fig. 2. Ein innerhalb 24 Stunden in einer $0,0001\ N$ -Lösung von Methyleneblau-Eosin vital gefärbtes *Paramecium*. Der Organismus ist frei von der in den anderen Figuren auffallenden Entstellung, die hauptsächlich in einer Verkürzung und Verdichtung des Zellenkörpers besteht. Der Oesophagus, die Zellenpellicula und die Cilien sind eben angedeutet.

Das Zellenprotoplasma ist mit blauen Granulis von geringer und fast gleicher Größe, deren Durchmesser $0,5\ \mu$ bis $1,8\ \mu$ beträgt, angefüllt, aber keine größeren Nahrungsmassen wie beim *Colidium* sind zu sehen. Diese Körnchen sind gegen den aboralen Pol des *Parameciums* hin reichlich vorhanden und fehlen im Nucleus, während sie am oralen Ende nicht bis an die Zellenpellicula reichen. Diese Granula, welche größer als die in der vorhergehenden Figur gezeigten oxyphilen Granula sind, sind in Bezug auf ihre Anzahl bei den verschiedenen *Paramecien* großen Schwankungen unterworfen. Mit Ausnahme dieser Granula ist kein Teil des Organismus gefärbt. Das *Paramecium* zeigt nirgends eine rote Färbung.

Fig. 3. Ein 2 Stunden lang in einer $0,02\ N$ -Lösung von KHO aufbewahrtes, und dann vor dem Färben gründlich in Alkohol gewaschenes *Paramecium*. Der Organismus ist geschwollen und relativ breiter als im lebenden Zustande. Das Zellenprotoplasma hat eine diffuse rote Färbung, jedoch sind die oxyphilen Granula nicht genau sichtbar, obwohl eine feine Punktierung besonders am untern Teil der Zelle erkennbar ist. Zahlreiche Vakuolen von verschiedener Größe und gewöhnlich fast kreisrunder Zeichnung sind zu sehen, deren Inhalt bei einigen schwach blau gefärbt ist, während andere klar bleiben. Daneben zeigt sich eine große Anzahl Exkretkörner oder Kristalle. Der Nucleus ist von schwach blauer Färbung. Die Zellenpellicula ist als getrennte Schicht nicht wieder zu erkennen. Ganz um den Zellenkörper herum befindet sich ein ungefärbter Ring von gleichförmigem Aussehen, der $7\ \mu$ bis $12\ \mu$ Dicke mißt und aus veränderten Cilien besteht.

Fig. 4. Ein 2 Stunden lang in einer $0,02\ N$ -Lösung von H_2SO_4 aufbewahrtes und dann vor dem Färben sorgfältig in Alkohol gespültes *Paramecium*. Der Organismus nimmt die methylenblau Farbe mit größerer Bereitwilligkeit auf als das Eosin. Das Zellenprotoplasma von bläulich purpurner Farbe weist keine klar gezeichneten Granula auf. Vakuolen befinden sich im Cytoplasma, dessen Inhalt größtenteils schwach bläulich gefärbt ist. Wie in der vorhergehenden Figur sind Exkretkörner oder Kristalle in reichlicher Menge vorhanden. Die Zellenpellicula zeigt sich untingiert. Ein weiter ungefärbter Ring ist um die Außenwand des Organismus herum gelagert, der aus Cilien gebildet ist, von denen einige am oralen Ende zu unterscheiden sind. Der Nucleus zeigt schwach blaue Färbung und weist ein grobkörniges Aussehen auf.

Fig. 5. Ein durch den konstanten Strom getötetes *Paramecium*. Eine auffallende Entstellung des Organismus ist vorhanden. Das dem $+$ -Pole zugekehrte Ende ist zusammengezogen und spitz, während das nach dem $-$ -Pole gerichtete Ende den gewöhnlichen geschwollenen, im Zerfall begriffenen Zustand zeigt. Die oxyphilen Granula sind an dem spitzen Ende dicht zusammengedrängt, welches daher stärker tingiert ist als die entgegengesetzte Extremität, wo die Granula sich in größeren Abständen voneinander befinden, so daß ihr individueller Charakter leichter in die Untersuchung gezogen werden kann. In den am kathodischen Ende des *Parameciums* wahrnehmbaren fast klaren Räumen fehlen die Granula gänzlich.

Der Organismus weist einen klaren Raum frei von Granulis um den Nucleus herum auf. Ein paar Exkretkörner oder Kristalle sind wahrzunehmen. Der Nucleus ist diffus blau gefärbt, und neben demselben befindet sich eine basophile Masse im Zellenprotoplasma. Die Zellenpellieula zeichnet sich gut an dem spitzen Ende ab und ist auch an einem Teile des geschwollenen Körperendes sichtbar. Sonst ist sie nicht zu erkennen.

Fig. 6. Ein durch den konstanten Strom getötetes Paramaecium. Die Zelle ist sehr entstellt und ist eingeschrumpft, indem ein Teil des Inhalts entwichen ist. Eine Zipfelbildung ist nicht sichtbar, da beide Enden der Zelle geschwollen sind, und zwar eines in größerem Maße als das andere. Wahrscheinlich hat sich die Stellung des Paramaeciums während des Durchgehens des Stromes verändert. Oxyphile Granula befinden sich in reicher Menge im Zellenprotoplasma. Einige Exkretkörner oder Kristalle sind vorhanden, aber keine basophile Materie ist zu erkennen. Die Zellenpellieula ist nicht an dem Umkreis der Zelle sichtbar wie in Figg. 1, 2 u. 3, sondern ist unten zu bemerken, wo sie getrennt ist und Längsfurchen aufweist.

